

## **ISOLAMENTO E ESTUDO BIOLÓGICO DE CEPAS DE *Toxoplasma gondii* DE CARNE DE GALINHAS PROVENIENTES DA REGIÃO URBANA DE GOIÂNIA.**

**VASCONCELOS**, Fábio Faria<sup>1</sup>; **HERZOG-SOARES**, Joanna D´arc Aparecida<sup>2</sup>

Palavras-chaves: *Toxoplasma gondii*, galinhas, isolamento, biologia.

### **1. INTRODUÇÃO** (justificativa e objetivos)

A toxoplasmose é uma das zoonoses mais comuns mundialmente. Seu agente etiológico, o *Toxoplasma gondii*, é um protozoário que apresenta um ciclo biológico heteroxênico facultativo e que desenvolveu vários mecanismos de transmissão entre diversas espécies de hospedeiros. É considerado um dos parasitos mais freqüentes do ser humano. A sua prevalência pode variar de região, conforme hábitos socioculturais, fatores geográficos e climáticos (TENTER et al., 2000). A grande prevalência do *T. gondii* em galinhas é um bom indicador da presença de oocistos do parasito no ambiente, já que a alimentação destas aves domésticas ocorre através do contato destas com o solo. Os seres humanos infectam-se principalmente ingerindo cistos do tecido de carne mal cozida, além do alimento ou água contaminados com os oocistos liberados nas fezes do gato (DUBEY, 2002). Aves domésticas, como galinhas “caipiras”, mesmo infectadas podem não apresentar sintomas clínicos da doença. Sendo a ingestão de cistos de *T. gondii* em carne de ave mal cozida uma fonte de infecção para o homem, e tendo a população do nosso estado o hábito de consumir carne mal cozida de aves na forma de churrascos (coração de galinha) e comidas típicas (galinhada), torna-se de grande relevância o estudo da freqüência de *T. gondii* a partir destas carnes, visto que não temos dados referentes ao estado de Goiás. O presente trabalho tem como objetivo pesquisar a presença do *T. gondii* em amostras de carne de aves para consumo provenientes da região urbana de Goiânia, determinar a capacidade de infectividade e virulência dos isolados, bem como, obter conhecimentos que possam subsidiar as autoridades de Vigilância Sanitária e demais autoridades da saúde no controle da toxoplasmose no Estado.

### **2. METODOLOGIA**

#### **2.1 – Amostragem**

Foram utilizadas 61 amostras, sendo 33 de coração e 28 de cérebro de galinha “caipira”, obtidas aleatoriamente em feiras da região urbana de Goiânia. Foram coletadas amostras de sangue das respectivas galinhas, objetivando posterior estudo sorológico. As amostras foram transportadas para o laboratório acondicionadas em bolsa térmica com gelo, à uma temperatura de aproximadamente 4°C.

#### **2.2 – Processamento das amostras e inoculação**

As amostras de coração com peso aproximadamente de 15g, foram cortadas e submetidas à digestão péptica (JACOB ; MELTON, 1957). A cada 10g de amostra foram adicionados 10ml de solução péptica. Esta mistura foi levada a banho maria a 37°C por uma hora e agitada manualmente. O produto foi filtrado em gaze estéril e

<sup>1</sup> Bolsista de Iniciação científica. Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública- IPTSP, [ffv15@yahoo.com.br](mailto:ffv15@yahoo.com.br)

<sup>2</sup> Orientador/ Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública- IPTSP, [joanna@iptsp.ufg.br](mailto:joanna@iptsp.ufg.br)

centrifugado a 4000 rotações/minuto durante 10 minutos e o sedimento foi ressuspenso em 10 ml de solução salina. Desta solução 0,5 ml foi inoculado por via intraperitoneal em cinco camundongos Swiss, com média de dois meses de idade e pesando aproximadamente 25g. As amostras de cérebro foram maceradas em solução salina, sendo o produto filtrado em gaze estéril e centrifugado a 4000 rotações/minuto durante 10 minutos e o sedimento foi ressuspenso em 5 ml de solução salina.

### 2.3 – Isolamento dos parasitos

Os camundongos foram observados diariamente, sendo sacrificados 60 dias após a inoculação, realizada punção cardíaca e o soro separado para teste sorológico. Os animais foram necropsiados o cérebro e o coração retirados, macerados (separadamente) diluídos em 2,5 ml de solução salina e inoculados em cinco camundongos. Os camundongos que apresentaram sinais clínicos da doença (lacrimajamento, pêlos arrepiados, apatia) foram sacrificados e feita pesquisa de taquizoítas no exsudado peritoneal. Confirmada a presença de taquizoítas, o exsudado foi inoculado em cinco camundongos (0,5ml/animal) que foram observados diariamente, e sacrificados quando apresentaram sinais da infecção.

### 2.4- Criopreservação dos parasitos

Após cinco reinoculações em camundongos, o exsudado peritoneal contendo os taquizoítas foi centrifugado à 3000 rpm por cinco minutos, o sedimento ressuspenso em 9ml de salina, adicionado 1ml de DMSO e homogeneizado lentamente. O material foi acondicionado em criotubos, congelados em freezer à -80°C e após 18 horas, transferido para o nitrogênio líquido para estudos posteriores.

### 2.5- Estudo da virulência do isolado 33A

Foram realizados até o momento o estudo da virulência de um dos isolados (33A). Esse foi inoculado em camundongos e o exsudato peritoneal diluído em solução salina estéril e o número de parasitos quantificado com auxílio da câmara de *Neubauer*, obtendo-se diluições de  $1 \times 10^1$ ;  $1 \times 10^2$ ;  $1 \times 10^3$ ;  $1 \times 10^4$ ;  $1 \times 10^5$  parasitos. Cada diluição foi inoculada por via intraperitoneal em grupos de cinco camundongos, que foram observados diariamente quanto ao aspecto físico e mortalidade, para avaliação da virulência. Os camundongos que não morreram até sessenta dias foram sacrificados. Após a morte os animais foram necropsiados, e o cérebro e os órgãos retirados para análise histopatológica. Como controle foi utilizada a cepa RH.

## **3 – RESULTADO E DISCUSSÃO**

Das 61 amostras inoculadas, em seis (9,8%) os camundongos apresentaram sintomas de fase aguda da doença (apatia, pêlos arrepiados, dificuldade de locomoção), sendo em todos observado a presença de taquizoítas no lavado peritoneal em análise microscópica. O período entre a inoculação das amostras e a morte destes camundongos foi variável, ocorrendo morte no 4º, 7º, 9º, 12º, 15º e 31º dia após a inoculação. Do total de isolados positivos, quatro (66,7%) eram provenientes de coração e duas (33,3%) de cérebro de galinha. No estudo da virulência do isolado 33A observou-se que os camundongos que receberam inóculo

<sup>1</sup> Bolsista de Iniciação científica. Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública- IPTSP, [ffv15@yahoo.com.br](mailto:ffv15@yahoo.com.br)

<sup>2</sup> Orientador/ Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública- IPTSP, [joanna@iptsp.ufg.br](mailto:joanna@iptsp.ufg.br)

de  $1 \times 10^5$  parasitos, morreram em média com nove dias após o inóculo, os com  $1 \times 10^4$  em média com 11 dias, os com  $1 \times 10^3$  em média com 19 dias, os que receberam  $1 \times 10^2$  em média com 38 dias e os que receberam  $1,0 \times 10^1$  não morreram. Não foi observado mortalidade em dois camundongos do grupo que receberam  $1 \times 10^2$ . Para controle utilizamos a cepa RH na qual foi observado que, os camundongos que receberam inóculo de  $1 \times 10^5$  parasitos, morreram em média com cinco dias após o inóculo, os com  $1 \times 10^4$  em média com sete dias, os com  $1 \times 10^3$  em média com 10 dias, os que receberam  $1 \times 10^2$  e  $1 \times 10^1$  não morreram.

#### 4- CONCLUSÃO

Das 61 amostras trabalhadas foram isolados parasitos em seis amostras (9,8%), até o momento. Isso não significa a inexistência de *T. gondii* nas outras amostras, pois o isolamento de cepas pode estar relacionado à quantidade de parasitos existentes, virulência, capacidade de cronificar, entre outros fatores. Observou-se também que o isolado em estudo (isolado 33A) é virulento com inóculo acima de  $1,0 \times 10^3$  parasitos, porém em baixo inóculo pode ser capaz de cronificar (cistogênico), demonstrando assim um comportamento semelhante ao da cepa controle (RH). Esse estudo aponta a galinha caipira como potencial transmissora da toxoplasmose para o homem e indica a necessidade de uma maior conscientização pela população quanto a ingestão de carne crua ou mal cozida destas aves, visto que obtivemos uma quantidade considerável de isolados de *T.gondii*.

#### 5- REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

Dubey J.P.; Saville W.J.; Stanek J.F.; Reed S.M. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in domestic cats from rural Ohio. **J Parasitol.**, p.802-803, 2002.

JACOBS, L.; MELTON, M.J.A. Procedure for testing meat samples for *Toxoplasma*, with preliminary results of pork and beef samples. **J. Parasit.**, v.43, p.38-49, 1957.

TENTER, A. M.; HECKEROTH, A. R.; WEISS, L. M. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *Int. J. Parasitol.*, v.30, n.12, p.217-258, 2000.

6- Fonte financiadora: Cnpq/ PIBIC

<sup>1</sup> Bolsista de Iniciação científica. Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública- IPTSP, [ffv15@yahoo.com.br](mailto:ffv15@yahoo.com.br)

<sup>2</sup> Orientador/ Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública- IPTSP, [joanna@iptsp.ufg.br](mailto:joanna@iptsp.ufg.br)